

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, доцента Кашталапа Василия Васильевича на диссертационную работу Ивановой Анастасии Андреевны «Комплексное исследование молекулярно-генетических основ внезапной сердечной смерти», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям - 3.1.20. Кардиология, 1.5.7. Генетика (медицинские науки)

Актуальность темы диссертационной работы

Внезапная сердечная смерть (ВСС) является социально-значимой и актуальной проблемой современной медицины. Частота ВСС среди причин смерти в мире достаточно высока, так как ВСС является частым исходом сердечно-сосудистых заболеваний, которые лидируют в структуре смертности населения как в России, так и во многих других развитых странах. Среди умерших ВСС преобладают мужчины, пик ее приходится на возраст старше 40 лет. Непосредственным клиническим субстратом ВСС чаще всего становятся: ишемическая болезнь сердца, нарушения ритма сердца (каналопатии) и кардиомиопатии. Однако около половины случаев ВСС развивается у лиц без диагностированного при жизни сердечно-сосудистого заболевания. В молодом возрасте причину ВСС не удается определить даже при проведении высококвалифицированного патологоанатомического исследования. Поэтому значимым является создание системы эффективной оценки риска ВСС у лиц как с известной, так и с скрытой сердечно-сосудистой патологией. Поскольку ВСС является мультифакториальной нозологией, исследование генетических факторов, увеличивающих риск ее наступления, является важным и необходимым для современной медицинской науки. Генетические маркеры ВСС могут быть использованы для проведения оценки предрасположенности к ВСС у лиц как с диагностированными, так и что более важно, не диагностированными сердечно-сосудистыми заболеваниями. Представленная диссертация является частью более обширного многолетнего исследования новосибирской школы кардиогенетиков, оно выполнено в рамках нескольких крупных грантов

(Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Новосибирской области, стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам, осуществляющим перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики).

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Группы пациентов, включенные в исследование (группа ВСС, группа внезапной несердечной смерти, контрольная группа) достаточного размера, критерии включения и исключения, принцип формирования групп не вызывает вопросов и сомнений в достоверности данных, полученных при исследовании и сравнении этих групп. Биоматериал для изучения группы ВСС (441 человек) сформирован из архивного анонимного банка ДНК внезапной смерти. Биоматериал контрольной группы (432 человека) подобран по полу и возрасту к группе ВСС из банков ДНК международных исследований MONICA и HAPIEE. На этапе исследования метилирования ДНК из группы ВСС была сформирована подгруппа мужчин, умерших внезапной сердечной смертью (150 человек) и группа внезапной несердечной смерти (150 мужчин), использованная как контрольная на данном этапе исследования. Использование в качестве контрольной группы на этапе исследования метилирования ДНК группы внезапной несердечной смерти обусловлено тканеспецифичностью метилирования ДНК, что потребовало использование для исследования ДНК, полученной из одной ткани в группе случая и контроля. Для проведения экзомного секвенирования из группы внезапной сердечной смерти отобраны 37 мужчин в возрасте 20-45 лет для поиска патогенных мутаций.

Дизайн исследования хорошо продуман, использованные методы молекулярно-генетического анализа являются современными, надежными и точными. Статистическая обработка полученных результатов проведена в

соответствии с общепринятыми принципами анализа данных. Интерпретация результатов секвенирования следующего поколения осуществлена согласно рекомендациям и полученные результаты частично подтверждены с помощью секвенирования по Сэнгеру. Таким образом, достоверность полученных при выполнении диссертации результатов не вызывает сомнений. Выводы, сформулированные положения, выносимые на защиту, практические рекомендации соответствуют поставленным задачам и полученным результатам.

Научная новизна положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа имеет несомненный высокий уровень научной новизны. Некоторые фрагменты работы проведены впервые в мире, а некоторые впервые в России. Впервые в мире изучена ассоциация с ВСС 22 однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при проведении полногеномного аллелотипирования на пулированной ДНК. Подтверждена ассоциация с ВСС для 12 из них (rs34554140, rs6670279, rs12904699 гена *OR4F6*, rs12170546 гена *PARVB*, rs6582147, rs2136810 гена *ARAP2*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs17797829, rs35089892 гена *SAMK2B*, rs6762529 гена *NAALADL2*, rs10010305, rs61999948).

В группе ВСС выполнен поиск мутаций, которые были идентифицированы в случаях ВСС в зарубежных странах. Впервые в России проведено экзомное секвенирование для мужчин умерших ВСС до 45 лет. При анализе 205 генов, имеющих отношение к внезапной сердечной смерти или сердечно-сосудистым заболеваниям, лежащим в ее основе, обнаружено 33 варианта, вероятно имеющих отношение к развитию фенотипа ВСС в 18 случаях. Впервые в мире изучена ассоциация с ВСС 7 однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при проведении экзомного секвенирования, подтверждена ассоциация rs34643859 гена *KCNS1* с ВСС. Впервые проведена

оценка ассоциации статуса метилирования CpG-островков расположенных в промоторе или экзонах 4 генов пациентов с ВСС. Выявлено, что метилирование промотора гена *ABCA1* ассоциировано с ВСС. Ранее в зарубежных исследованиях была показана ассоциация метилирования изучаемых генов с ишемической болезнью сердца. Важным является, что получены новые данные по ассоциации генетических полиморфизмов с некоторыми клиническими и судебно-медицинскими параметрами пациентов (rs61999948 ассоциирован с атеросклерозом, rs6762529 гена *NAALADL2* ассоциирован с индексом атерогенности, rs34643859 гена *KCNS1* – с толщиной миокарда правого желудочка и частотой сердечных сокращений).

Полнота изложения основных результатов исследования в диссертации и научной печати

Все результаты диссертационного исследования опубликованы в 49 научных работах, из которых 21 статья в рецензируемых журналах, рекомендованных перечнем ВАК Российской Федерации, из них 9 индексируются в базах данных Scopus/Web of Science. Основные положения диссертации доложены на 8 российских и международных конференциях и симпозиумах в виде устных или постерных докладов.

Оценка содержания и оформления диссертации и автореферата

Диссертация Ивановой А.А. построена по традиционному типу и соответствует стандартам представления результатов научно-исследовательских работ. Диссертация изложена на 288 страницах, состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы (21 ссылка на отечественные и 352 ссылки на зарубежные источники), списка иллюстративного материала, в котором 32 таблицы и 34 рисунка и приложения, состоящего из 5 таблиц.

Во введении кратко изложена актуальность и степень разработанности темы исследования. Цели и задачи сформулированы четко и ясно. Задачи полностью соответствуют поставленной цели. Изложена научная новизна полученных результатов, теоретическая и практическая значимость работы, описаны методология и методы исследования. Положения, выносимые на защиту, сформулированы грамотно и соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Также описана степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора.

В первой главе, посвященной обзору литературы, автором представлен анализ российских и зарубежных публикаций последних лет, касающихся общих представлений о ВСС (определение, эпидемиология, этиология, патогенез, факторы риска, молекулярная аутопсия), исследований молекулярно-генетических маркеров ВСС, выполненных с помощью различных методов (ПЦР, GWAS, NGS). Также глава содержит раздел по исследованиям метилирования ДНК при сердечно-сосудистых заболеваниях, лежащих в основе внезапной сердечной смерти, где описана важность и значимость проведения таких исследований, которых для внезапной сердечной смерти практически нет. Обзор дает полное представление о современном состоянии проблемы ВСС и поиска ее молекулярно-генетических маркеров и наглядно демонстрирует, что диссертант ориентируется в современной литературе по выбранной теме исследования. В главе «Материал и методы» на высоком научно-методическом уровне описан дизайн и этапы исследования. Глава содержит исчерпывающую информацию о группах, включенных в исследование, выбранных полиморфизмах и использованных методах, в том числе методах статистической обработки полученных данных. В разделах третьей главы «Результаты и обсуждения» представлены результаты исследования и их критический анализ в сравнении с опубликованными данными ранее проведенных исследований. Раздел 3.1 содержит результаты по поиску и изучению ассоциации с внезапной сердечной смертью однонуклеотидных

полиморфизмов, выявленных по результатам полногеномного аллелотипирования. В разделе 3.2 представлены результаты по поиску мутаций, выявленных методом полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях, в группе ВСС. Раздел 3.3 посвящен экзомному секвенированию группы мужчин умерших ВСС в возрасте до 45 лет (37 человек). Результаты исследования однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при анализе результатов экзомного секвенирования как вероятные молекулярно-генетические маркеры внезапной сердечной смерти, и их обсуждение занимает раздел 3.4. Последний раздел 3.5 содержит данные по метилированию ДНК в группах внезапной сердечной и несердечной смерти и их анализ. Заключение, выводы, практические рекомендации сформулированы четко, логично вытекают из результатов проведенного исследования, соответствуя целям и задачам работы. Работа написана профессиональным научным языком. Изложение материала последовательно и логично.

Основная информация по диссертационному исследованию в необходимом объёме, логично и структурировано представлена в автореферате. Автореферат полностью отражает основные положения диссертационного исследования.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов

Проведенное Ивановой А.А. исследование позволило получить сведения о частотах генотипов и аллелей ряда вариантов нуклеотидной последовательности в группе лиц, умерших от ВСС, ассоциациях этих вариантов с ВСС и некоторыми клиническими и судебно-медицинскими параметрами. Накопление таких данных является важным этапом для разработки системы диагностики предрасположенности к ВСС с использованием молекулярно-генетических маркеров. Полученные

результаты могут быть полезны при планировании будущих исследований внезапной сердечной смерти на российской популяции.

По результатам выполненного исследования сформулированы конкретные практические рекомендации, которые касаются использования секвенирования следующего поколения (экзомное секвенирование) для молекулярной аутопсии при внезапной сердечной смерти.

Уровень внедрения результатов исследования

Материалы и выводы диссертации Ивановой А.А. внедрены в учебный процесс отдела образования НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН по программам ординатуры и аспирантуры, в научную деятельность лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН.

Личное участие автора

Иванова А.А. принимала участие в разработке концепции и дизайна исследования, участвовала во всех этапах исследовательского процесса (отбор маркеров для исследования, формирование группы ВСС и контрольной группы, выделение ДНК, разработка методик генотипирования, генотипирование групп методом ПЦР, оценка статуса метилирования ДНК, статистический анализ данных, анализ данных экзомного секвенирования, подтверждение полученных результатов с помощью прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру). Соискателем в соавторстве написаны и опубликованы печатные работы в журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ, некоторые из которых индексируются в WoS и/или Scopus.

Диссертационное исследование, несомненно, соответствует паспортам искомых специальностей: 3.1.20. Кардиология, 1.5.7 Генетика (медицинские

науки). Принципиальных замечаний к диссертационному исследованию Ивановой А.А. нет.

Вопросы, которые возникают при прочтении, не носят принципиального характера, а лишь подтверждают высокую актуальность и новизну полученных результатов:

1. Какие могут быть патофизиологические объяснения выявленным в популяции внезапно умерших жителей западносибирского региона наследственным особенностям генетической предикции ВСС? Почему в разных регионах генетические предикторы ВСС могут быть разными?
2. Как можно объяснить гендерные и возрастные различия ассоциации найденных генетических маркеров с ВСС?
3. Как бы Вы объяснили с биологических позиций выявленный проекторный эффект найденных полиморфизмов в отношении риска развития ВСС?
4. Какие Вы видите пути дальнейших исследований для продолжения тематики диссертационной работы?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ивановой Анастасии Андреевны «Комплексное исследование молекулярно-генетических основ внезапной сердечной смерти», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.20. Кардиология, 1.5.7. Генетика (медицинские науки), научный консультант д.м.н., профессор Максимов Владимир Николаевич, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной проблемы по изучению ассоциации с внезапной сердечной смертью ряда частых однонуклеотидных вариантов, мутаций генов, метилирования ДНК, что имеет большое значение для развития клинической медицины в области кардиологии.

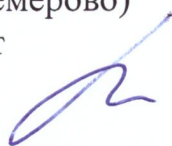
По своей актуальности, научной новизне, степени обоснованности сформулированных в диссертации научных положений, выводов, теоретической и практической значимости полученных результатов,

представленная работа соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Иванова Анастасия Андреевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.20. Кардиология, 1.5.7. Генетика (медицинские науки)

Официальный оппонент:

Заведующий отделом клинической кардиологии федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ, г. Кемерово)
доктор медицинских наук, доцент

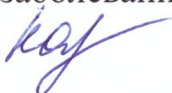
Василий Васильевич Кашталап



Подпись д.м.н., доцента Кашталапа В.В. заверяю.

Ученый секретарь федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ, г. Кемерово), кандидат медицинских наук

Яна Владимировна Казачек



23.05.2023

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (НИИ КПССЗ) Адрес: 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар д.6. Тел: 8(3842) 643-153. e-mail: v_kash@mail.ru; kashvv@kemcardio.ru

